

## PREVALENCIA Y DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LOS VIRUS PVX, PVY, PVA, PVM, PVS Y PLRV EN EL CULTIVO DE LA PAPA EN LA ZONA NORTE DE CARTAGO, COSTA RICA<sup>1/\*</sup>

Melanie J. Hord<sup>2/\*\*</sup>, Carmen Rivera<sup>\*\*</sup>

### RESUMEN

Se realizó un muestreo de papa de la zona norte de la provincia de Cartago, principal zona de producción de papa en Costa Rica, durante el período comprendido entre febrero y agosto de 1997. Se colectaron hojas terminales de 30 plantas en cada una de las 36 parcelas, ubicadas entre 1400 y 3000 msnm. Las muestras fueron analizadas para la presencia de los virus PVX, PVY, PLRV, PVA, PVM y PVS, mediante DAS-ELISA. Se detectó por lo menos uno de los 6 virus en todas las parcelas incluidas en el estudio. En parcelas individuales, se detectaron en promedio 3 virus. El PVX fue el prevalente, encontrándose en el 92% de las parcelas, seguido por PLRV (72%), PVY (56%), PVM (56%), PVA (33%) y PVS (14%). La prevalencia de cada virus fue similar en las diferentes altitudes.

### ABSTRACT

**Prevalence and geographic distribution of viruses PVX, PVY, PVA, PVM, PVS and PLRV in potato in Costa Rica.** Potato leaf samples were collected during the period from February to August of 1997 in the northern zone of the Cartago province, the main area of potato production in Costa Rica. Terminal leaves were collected from 30 plants in each of 36 fields located at altitudes between 1400 and 3000 masl. Samples were analyzed for the presence of potato viruses X, Y, A, M, S and potato leaf roll virus (PLRV) by DAS-ELISA. At least one virus was detected in all of the fields included in the study, with an average of 3 viruses present in individual fields. PVX was the most prevalent and was detected in 92% of the fields, followed by PLRV (72%), PVY (56%), PVM (56%), PVA (52%) and PVS (14%). The prevalence of each virus was similar at different altitudes.

### INTRODUCCION

Las enfermedades causadas por virus son factores limitantes de gran importancia en la producción de papa a nivel mundial. Se conocen más de 20 virus patógenos del cultivo de la papa, sien-

do los más importantes los virus PVX, PVY, PVS, PVM, PVA y el virus del enrollamiento de la hoja (PLRV). Las enfermedades causadas por estos patógenos pueden reducir el vigor de las plantas infectadas y la calidad y cantidad de la cosecha. En el Cuadro 1 se presenta una descripción breve de los síntomas causados por estos virus y el modo de transmisión de ellos (Brunt et al. 1996, Bantari et al. 1993).

En Costa Rica, se ha informado la presencia de los virus PVX, PVY, PLRV, PVA, PVM, PVS, TMV y TRSV en el cultivo de la papa (Berrocal 1963, Ramírez 1963, Solís 1989). Estudios realizados en años anteriores mostraron la alta

1/ Recibido para publicación el 14 de abril de 1998.

2/ Autora para correspondencia.

\* Proyecto financiado por la Comisión Nacional de Incentivos, Ministerio de Ciencia y Tecnología, Costa Rica.

\*\* Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

incidencia de los virus PVX y PLRV en plantaciones comerciales y para semilla. La incidencia de PVX, determinada mediante técnicas serológicas, fue aproximadamente del 77 al 95% en plantaciones comerciales de papa ubicadas en las zonas alta (>2500 msnm) y media (2000-2500 msnm) (Ramírez 1976). La incidencia del PLRV, determinada por tinción de la calosa, fue mayor al 97% en semilla de papa proveniente de las zonas alta (>2500 msnm), media (2000-2500) y baja (<2000 msnm) (Espinoza y Gámez 1977). En

1986, se estimó un 10% de infección por PLRV, mediante inspección visual, en plantaciones comerciales en la zona de Llano Grande de Cartago (Arrieta 1986). Sin embargo, no hay estudios recientes sobre la prevalencia y distribución de estos u otros virus en Costa Rica. El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la presencia, distribución e importancia relativa de los virus PLRV, PVX, PVY, PVA, PVM y PVS en la zona norte de Cartago, la zona principal de producción comercial de papa en Costa Rica.

Cuadro 1. Síntomas y modo de transmisión de algunos virus de la papa (Bantarrí et al. 1993, Brunt et al. 1996).

Virus	Síntomas	Transmisión
PLRV (Luteovirus)	Enrollamiento de las hojas, clorosis, enanismo. Pérdidas de hasta 50-80%.	Tubérculos infectados. Afidos, principalmente <i>Myzus persicae</i> (persistente).
PVY (Potyvirus)	Variable, según la variedad de papa y la cepa del virus. Incluyen rugosidad, mosaico, necrosis, moteado, clorosis, caída de hojas. Síntomas más severos en combinación con PVX. Pérdidas de 10-80%.	Tubérculos infectados. Más de 30 especies de áfidos, principalmente <i>M. persicae</i> y <i>Aphis nasturtii</i> (no persistente).
PVA (Potyvirus)	Mosaico, rugosidad. Pérdidas de hasta un 40%.	Tubérculos infectados 7 especies de áfidos, principalmente <i>M. persicae</i> y <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (no persistente).
PVX (Potexvirus)	Por lo general no presenta síntomas foliares. En combinación con PVY o PVA, causa mosaico rugoso severo. Pérdidas de hasta más del 15%.	Tubérculos infectados, contacto entre plantas, por maquinaria y herramientas.
PVS (Carlavirus)	En muchas variedades no presenta síntomas foliares. Pérdidas de 10-20%.	Tubérculos infectados. Afidos, principalmente <i>M. persicae</i> y <i>A. nasturtii</i> (no persistente). Contacto entre plantas.
PVM (Carlavirus)	Mosaico, rugosidad, enrollamiento de hojas, enanismo. Mayor expresión de síntomas a temperaturas <24°C.	Tubérculos infectados. Afidos, principalmente <i>M. persicae</i> (no persistente).

## MATERIALES Y METODOS

Se realizó un muestreo de la zona norte de Cartago durante el período entre febrero y agosto de 1997. El estudio comprendió un total de 36 parcelas, 12 de las cuales se encuentran a una altitud menor a 1800 msnm (zona baja), 12 entre 1800 y 2500 msnm (zona media), y 12 a una altitud mayor a los 2500 msnm (zona alta). Las parcelas fueron seleccionadas con base en la ubicación de la parcela, el estado fisiológico del cultivo, la variedad y la disponibilidad del agricultor para participar en el estudio. La mayoría de las parcelas en la zona baja fueron de la variedad Atzimba. En las zonas media y alta, además de Atzimba, se colectaron muestras de las variedades Floresta, Birris, Idiafrit y otras de menor importancia. En la zona alta, 6 de las 12 parcelas muestreadas estaban dedicadas a la producción de semilla y las otras 6 a la producción comercial.

El muestreo de cada parcela se realizó durante la etapa de floración. Se colectaron hojas terminales de 30 plantas/parcela, siguiendo un patrón predeterminado en zig-zag y sin tomar en cuenta la presencia de síntomas. Las 30 muestras fueron procesadas en grupos de 5 plantas, para un total de 6 muestras compuestas por parcela. Las hojas fueron maceradas (1:10 p/v) en amortiguador (137 mM NaCl, 8 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 27 mM KCl, 10 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2% polivinilpirrolidona (PM 40.000), 3 mM NaN<sub>3</sub>, 0.2% albúmina bovina, 0.05% polioxietilensorbitan monolaurato (Tween 20)), y congeladas a -20°C.

Las muestras fueron analizadas para la presencia de los virus PVX, PVY, PLRV, PVA, PVM y PVS mediante DAS-ELISA. Los anticuerpos y conjugados (anticuerpo-fosfatasa alcalina) contra PVX y PVY fueron producidos por el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica (datos sin publicar). Para la detección de los virus PLRV, PVA, PVM y PVS se utilizaron anticuerpos y conjugados comerciales (Agdia, Inc. Indiana, E.E.U.U.). Se utilizaron los protocolos y amortiguadores recomendados por la casa comercial, así como los controles positivos suministrados por ella. Como controles positivos para

PVY y PVX se utilizaron muestras de plantas inoculadas con los aislamientos PVY-CR y PVX-CR que se mantienen en invernadero y bajo congelación a -70°C en el CIBCM. Como controles negativos para todos los ensayos se utilizaron plantas sanas de papa de invernadero.

Se incluyeron un mínimo de 2 plantas sanas y una infectada como controles negativos y positivo, respectivamente, en cada prueba de ELISA. Las muestras y controles se montaron por duplicado en cada prueba. La absorbancia a 405 nm fue determinada con un lector de placas de ELISA (BioRad Modelo 550); el promedio de la absorbancia de los controles negativos más 3 desviaciones estándar fue utilizado como criterio para considerar una muestra positiva.

La incidencia de cada virus en parcelas individuales fue estimada a partir de la proporción de muestras compuestas positivas. La incidencia y los límites de confianza de 95% fueron calculados de acuerdo con el método de Moran et al. (1983), utilizando valores obtenidos de la tabla de distribuciones binomial y Poisson (Fisher y Yates 1963). La relación entre el número de muestras positivas y la incidencia estimada en el campo se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Relación entre el número de muestras compuestas positivas y la incidencia en el campo, al tomarse 6 muestras de 5 plantas cada una.

Nº muestras positivas	Incidencia estimada (%)	Intervalo de confianza (95%)
0	no detectado	0 - 12
1	4	0.9 - 19
2	8	0.9 - 26
3	13	2.5 - 35
4	20	5 - 47
5	30	9 - 47
6	>30	14 - 100

## RESULTADOS

Se detectó la presencia de los 6 virus, PVX, PLRV, PVY, PVM, PVA y PVS, en la zona norte de Cartago (Figura 1). El PVX fue el prevalente, encontrándose en el 92% de las parcelas,

seguido por PLRV (72%), PVY (56%), PVM (56%), PVA (33%) y PVS (14%). La prevalencia de cada virus fue similar en las 3 altitudes (Figura 2).

Se detectó por lo menos uno de los 6 virus en cada una de las parcelas incluidas en el estudio. El número total de virus encontrados en parcelas individuales varió de 1 a 6, con un promedio de 3 virus. En el 55% de las parcelas se encontraron 3 ó 4 virus.

El PVX, además de encontrarse en la mayoría de las parcelas, presentó una alta incidencia en parcelas individuales. La incidencia estimada de este virus fue igual o mayor al 30% en 26 de las 36 parcelas incluidas en el estudio (Figura 3). El virus menos prevalente fue el PVS. Este virus se detectó en solo 5 de las 36 parcelas, y la incidencia fue igual o menor al 20% en las parcelas positivas (Figura 3). La incidencia estimada de los virus PLRV y PVY, PVM y PVA fue igual o mayor al 30% en algunas parcelas incluidas en el estudio (Figura 3).

Los virus PVX, PLRV, PVY, PVM y PVA fueron detectados no solo en parcelas comerciales, sino también en parcelas dedicadas a la producción de semilla. La incidencia de los virus PVX, PVY y PVM fue mayor al 30% en algunas de estas parcelas (Figura 4).

La presencia de los 6 virus en las diferentes variedades de papa se observa en el Cuadro 3.

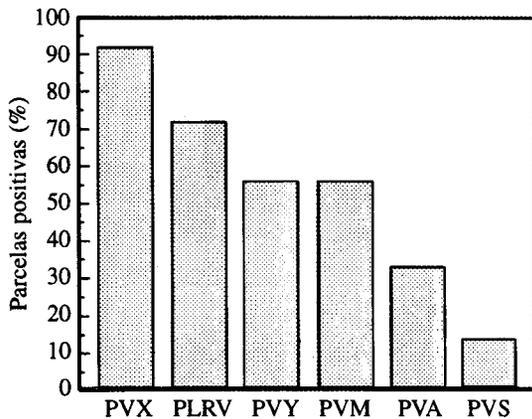


Fig. 1. Prevalencia de los virus PVX, PLRV, PVY, PVM, PVA, y PVS, en el cultivo de papa en la zona norte de Cartago, 1997.

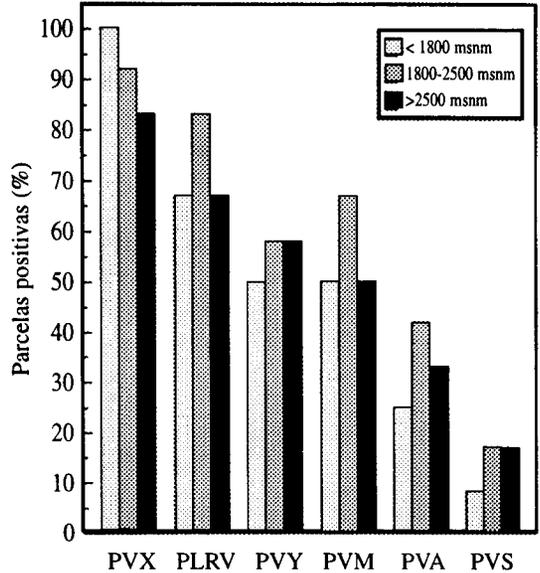


Fig. 2. Prevalencia de los virus PVX, PLRV, PVY, PVM, PVA, y PVS, en el cultivo de papa en 3 altitudes de la zona norte de Cartago, 1997.

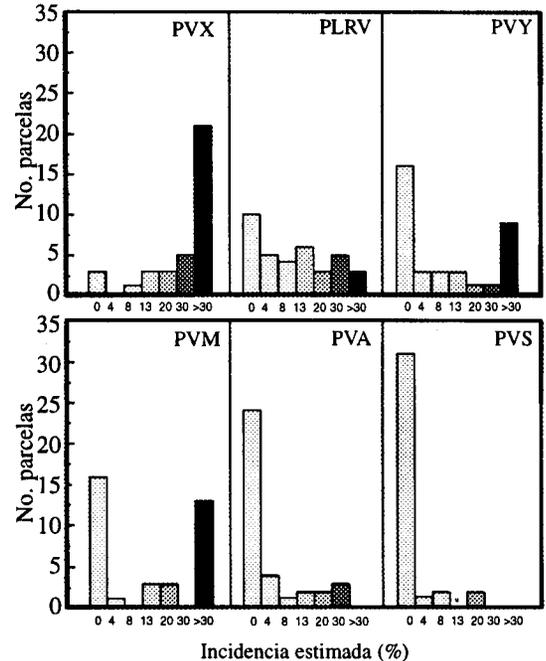


Fig. 3. Histograma de la incidencia de los virus PVX, PLRV, PVY, PVM, PVA, y PVS, en parcelas de papa en la zona norte de Cartago, 1997.

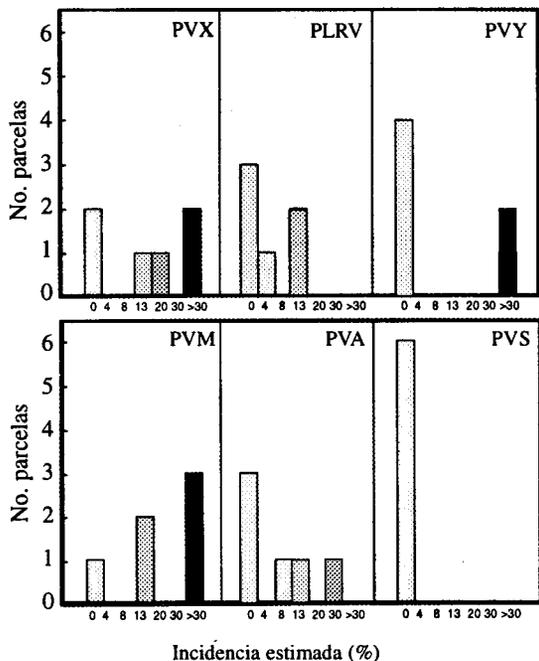


Fig. 4. Histograma de la incidencia de los virus PVX, PLRV, PVY, PVM, PVA, y PVS, en parcelas dedicadas a la producción de semilla de papa en la zona norte de Cartago, 1997.

Cuadro 3. Presencia de 6 virus en diferentes variedades de papa en la zona norte de Cartago, 1997.

Variedad	Nº parcelas muestreadas	No. parcelas positivas					
		PVX	PLRV	PVY	PVM	PVA	PVS
Atzimba	22	22	17	13	9	6	3
Floresta	5	4	3	4	3	3	0
Idiafrit	3	2	1	0	3	2	0
Birrís	1	1	1	1	1	0	0
Otras	5	4	4	2	4	1	2

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio evidencian la amplia distribución de virosis en el cultivo de papa en la zona norte de Cartago. En todas las parcelas incluidas en el estudio se encontró por lo menos un virus; sin embargo, en la mayoría se detectaron 3 ó 4 y en algunas parcelas hasta los 6 diferentes virus estudiados.

El PVX fue el virus prevalente en la zona norte de Cartago. Este virus es de distribución mundial y su detección por inspección visual es difícil, ya que por lo general no presenta síntomas foliares. El PVX es diseminado en tubérculos infectados, por contacto entre plantas y por maquinaria y herramientas. Los demás virus incluidos en el estudio son diseminados principalmente en tubérculos infectados y por áfidos en forma persistente (PLRV) o no persistente (PVY, PVA, PVM, PVS). Su detección por inspección visual también es difícil, ya que la expresión de síntomas puede ser variable según la cepa del virus, la variedad de papa, las condiciones ambientales y el momento de la infección (Hooker 1986).

En Costa Rica, la incidencia del PLRV en lotes para semilla determinada hace 20 años fue igual o mayor al 97% (Espinoza y Gámez 1977). En el presente estudio, la incidencia en promedio de este virus fue menor con respecto a la incidencia reportada anteriormente, probablemente debido a que se han establecido normas para la selección y producción de semilla libre de virus (Oficina Nacional de Semillas, sin fecha). No obstante, la incidencia de PVX, PVY, PVM y PVA fue igual o mayor al 30% en algunas parcelas dedicadas a la producción de semilla. Aunque los límites de confianza para la incidencia estimada en este estudio cubren un amplio ámbito de valores, el límite inferior corresponde a un 9%, valor de incidencia alto para parcelas dedicadas a la producción de semilla.

Además de ser diseminados en tubérculos infectados, los virus PLRV, PVY, PVA, PVM y PVS son diseminados por varias especies de áfidos. Se ha demostrado la presencia de áfidos vectores de virus de la papa en la zona norte de Cartago (Meneses 1990, Meneses y Amador 1990, Chacón 1980). Las especies predominantes en las zonas paperas son *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Chacón 1980, Meneses y Amador 1990). *Myzus persicae* es un vector eficiente de los virus PLRV, PVY, PVA, PVS y PVM, mientras *Macrosiphum euphorbiae* es uno de los vectores importantes del PVA (Bantari et al. 1993). En general, se observa una dis-

minución, tanto en el número total de especies capturadas como en la población de cada especie, a altitudes mayores a los 2500 msnm (Chacón 1980, Meneses y Amador 1990). Por esta razón, en Costa Rica las parcelas para la producción de semilla están ubicadas a una altitud mayor a los 2500 msnm, en una región donde se cree que el riesgo de infección es mínimo debido a que las condiciones ambientales son menos favorables para los vectores de los virus. Sin embargo, la presencia de áfidos vectores en la zona de producción de semilla, aunque con poblaciones bajas, puede ser suficiente para la transmisión de virus, con un aumento paulatino en la incidencia a través de varias siembras sucesivas. Es necesario determinar la importancia de los áfidos vectores en la diseminación de virus en áreas dedicadas a la producción de semilla en Costa Rica, con el fin de determinar el número de ciclos de incremento de semilla que se pueden permitir, sin superar los niveles permisibles para la incidencia de virus.

Los virus incluidos en el presente estudio se consideran de los más importantes a nivel mundial, dada su amplia distribución e importancia económica. Las pérdidas económicas debidas a los virus PLRV, PVX, PVY, PVA y PVS se han documentado (Banttari et al. 1993). La importancia económica del PVM no se conoce con certeza; sin embargo, es incluido rutinariamente en programas de limpieza y certificación de semilla (Slack 1993, Jones et al. 1986). Dada la prevalencia de este virus en Costa Rica, se deben realizar estudios sobre sus efectos en el rendimiento en las variedades de papa recomendadas para las condiciones locales.

Si bien los 6 virus estudiados en la presente investigación son los de mayor importancia a nivel mundial, no se debe descartar la presencia de otros virus o cepas de éstos en el cultivo de la papa en Costa Rica. Por ejemplo, hay evidencia de la presencia en Costa Rica de dos razas de los virus PVY y PLRV (Ramírez 1963, Berrocal 1963), y de los virus TMV y TRSV (Solís 1989). Se necesitan estudios para determinar la prevalencia e importancia económica de éstos virus en el cultivo de la papa en Costa Rica.

El uso de material de siembra libre de patógenos es de suma importancia en el manejo de enfermedades causadas por virus en cultivos propagados vegetativamente, como es la papa. Por eso, en la mayoría de los países productores de papa, incluyendo a Costa Rica, se han establecido programas de certificación del estado fitosanitario de la semilla de papa, con el fin de mantener la incidencia de virosis y otras enfermedades en semilla certificada por debajo de niveles previamente establecidos. El éxito de tales programas depende del cumplimiento de una serie de requisitos, como el aislamiento geográfico de las áreas de producción de semilla de las áreas de producción comercial, el análisis serológico de rutina en etapas iniciales de incrementación de semilla, inspecciones visuales en parcelas dedicadas a la producción de semilla, medidas estrictas para el combate de áfidos y restricciones del número de ciclos consecutivos de incremento de semilla (Slack 1993). Los resultados del presente estudio indican que la incidencia del PLRV ha disminuido con relación a décadas pasadas. Sin embargo, el hallazgo de altos niveles de virosis en parcelas de producción de semilla sugiere que es necesario incrementar los esfuerzos hechos hasta ahora en relación con la sanidad de este cultivo en Costa Rica.

## AGRADECIMIENTO

Las autoras agradecen a Dennis Morales, William Villalobos, los agricultores de papa de la zona norte de Cartago y a la Ing. Janet Avilés por su colaboración con el presente estudio.

## LITERATURA CITADA

- ARRIETA, J. M. 1986. Estudio sobre la incidencia de las principales enfermedades de la papa y su relación con el manejo del cultivo, en Llano Grande de Cartago. Tesis Ing. Agr. Escuela de Fitotecnia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- BANTTARI, E.; ELLIS, P.; KHURANA, S. 1993. Management of diseases caused by viruses and viruslike pathogens. Cap. 14 In: Rowe, R.C. ed. 1993. Potato Health Management. APS Press. St. Paul, MN. 178 p.

- BERROCAL, E. 1963. Estudio del virus del enrollamiento de las hojas de la papa en Costa Rica. Tesis Ing. Agr., Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 75 p.
- BRUNT, A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.; GIBBS, A.; WATSON, L. 1996. Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database. CAB International. University Press, Cambridge, UK. 1484 p.
- CHACÓN, M. C. 1980. Evaluación de la población de áfidos alados en cultivos de papa para semilla en la zona norte de Cartago. Tesis, Ing. Agr., Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- ESPINOZA, A. M.; GAMEZ, R. 1977. Incidencia del virus del enrollamiento de las hojas de papa en lotes comerciales de semilla en Costa Rica. Fitopatología 12 (2): 97-98.
- FISHER, R. A.; YATES, F. 1963. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. Oliver & Boyd. Edinburgh. 146 p.
- HOOKE, W. J. (Ed.) 1986. Compendium of Potato Diseases. APS Press. St. Paul, MN. 125 p.
- JONES, E. D.; MUNRO, J.; DARLING, H. M. 1986. Seed Potato Certification. In: Compendium of Potato Diseases. Ed. by W.J. Hooker. APS Press. St. Paul, MN. 125 p.
- MENESES, R. 1990. Monitoreo de áfidos y su relación con el programa de semilla de papa en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 15: 45-52.
- MENESES, R.; AMADOR, R. 1990. Los áfidos alados de la papa y su fluctuación poblacional en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 15: 35-44.
- MORAN, J. R., GARRETT, R. G.; FAIRWEATHER, J. V. 1983. Strategy for detecting low levels of potato viruses X and S in crops and its application to the Victorian Certified Seed Potato Scheme. Plant Disease 67: 1325-1327.
- OFICINA NACIONAL DE SEMILLAS. Sin fecha. Reglamento Técnico para la Producción de Semilla Certificada de Papa. San José, Costa Rica.
- RAMIREZ, C. 1976. Aplicación de técnicas serológicas en el diagnóstico del virus X de la papa (*Solanum tuberosum* L.). Tesis, M.Sc., Programa de Posgrado de Microbiología y Parasitología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 61 p.
- RAMIREZ, W. 1963. Estudio sobre el virus de la necrosis de las venas y el virus X de la papa en Costa Rica. Tesis, Ing. Agr., Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- SLACK, S. A. 1993. Seed Certification and Seed Improvement Programs. Cap. 7 In: Rowe, R. C. ed. 1993. Potato Health Management. APS Press. St. Paul, MN. 178 p.
- SOLÍS, V. C. 1989. Índice de Enfermedades de los Cultivos Agrícolas de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería-Dirección de Sanidad Vegetal. Convenio Costarricense Alemán de Sanidad Vegetal MAG-GTZ. Costa Rica. 112 p.